

Thesis

TÜBINGEN

1967

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. H. Roemer

Über die Ausscheidung von luteotroper Aktivität
während des frühen Wochenbettes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Renate Hammond, geb. Bube
aus Hannover

9200

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. H. Roemer

Über die Ausscheidung von
luteotroper Aktivität
während des frühen Wochenbettes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Renate Hammond, geb. Bube
aus Hannover

1967

Dekan:

Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter:

Dozent Dr. R. Blobel

2. Berichterstatter:

Professor Dr. H. Roemer

MEINEN ELTERN

I n h a l t s a n g a b e

- I. Einleitung und Problemstellung
- II. Material und Methodik
 - a) Prolactinextraktion
 - b) Prolactinnachweis
- III. Ergebnisse
- IV. Diskussion
- V. Zusammenfassung
- VI. Literaturverzeichnis
- VII. Lebenslauf

I. Einleitung und Problemstellung.

Den ersten Hinweis auf ein die Laktation anregendes Hormon des Hypophysenvorderlappen (HVL) finden wir bei Ehrhardt (1928). Im selben Jahre konnten Grueter und Stricker durch HVL - Extrakte eine Laktation beim Kaninchen auslösen. Die erste spezifische Nachweismethode für diesen Hormonanteil des HVL wurde 1933 von Riddle und seinen Mitarbeitern entwickelt. Sie entdeckten, daß dieses Hormon das Körperwachstum und die Milchsekretion der Kropfdrüse der Taube anregt. Jedoch fand sich überwiegend eine Stimulierung der Kropfmilchsekretion. Daraus schlossen sie, daß dieses Hormon nicht mit dem Wachstumshormon identisch ist. Man nannte es wegen seiner Fähigkeit, die Milchsekretion zu stimulieren, Prolactin.

Riddle entwickelte als erster zum Prolactinnachweis eine quantitative Methode am Taubenkropf, die sog. "crop weight method". Dabei dient die Gewichtszunahme des Taubenkropfes als Gradmesser lactotroper Aktivität. Die "minimum stimulation method" Mc Shan und Turner (1936) ist ein semi-quantitativer Nachweis am gleichen Testobjekt. Nach subcutaner Injektion von Prolactin kommt es zu histologischen Veränderungen an der Kropfdrüse (typical strands of thickened mucosa). Eine weitere Methode am Taubenkropf wurde von Lyons und Page (1935) entwickelt "the local intradermal method": Nach Prolactininjektion wird eine Proliferation des Epithels des Taubenkropfes und eine Zunahme der basophilen Zellen beobachtet. Diese Methode soll sich besonders gut zum Nachweis von Prolactin aus dem Urin eignen, Bahn und Bates (1956). Eine weitere methodische Verbesserung wurde von Berswordt - Wallrabe und Herlyn (1966) ausgearbeitet. Durch Zugabe von Cortisol zum Serumextrakt wurde die Methode empfindlicher und präziser.

Langecker und Schenk (1936) konnten am puerperalen Kaninchen den Prolactinnachweis im Wöchnerinnenharn führen. Bei mit Oestrogenen und Progesteron vorbehandelten Kaninchen wies man eine erhöhte Milchabsonderung nach Prolactingaben nach, Cuboni und Carminati (1954).

Durch Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Prolactinausscheidung und Menstruationszyklus Ehrhardt und Voller (1939), Coppedge und Segaloff (1951), Hadfield und Young (1956) konnte man die Vermutung erhärten, daß Prolactin die Progesteronsekretion anregt, Voß (1942); man fand einen Anstieg der Prolactinausscheidung in der Mitte des Zyklus, Hadfield (1956). Außerdem fanden Ehrhardt und Voller (1939) noch einen weiteren Gipfel zu Beginn des Zyklus. Daraus hat man auf eine Wirkung des Prolactins auf Ovar und Uterus geschlossen.

Die Annahme aber, daß Prolactin und das luteotrope Hormon (LTH) identisch sind, hat man bis jetzt noch nicht eindeutig nachweisen können, Astwood (1953). Doch schon Leblond und Allen (1937) konnten nach LTH - Gaben eine Erhöhung der Mitoserate im Taubenkropf beobachten. Durch Untersuchungen von Wolthuis (1961) konnte die Identität von LTH und Prolactin wahrscheinlich gemacht werden: Direkte Wirkung von Prolactin auf die Corpus - luteum - Zellen bei der Ratte. Eine weitere Bestätigung erbrachten die Ergebnisse von Blobel (1965) und Blobel und Köstlin (in Vorbereitung): bei hypophysektomierten, adrenaletomierten, geschlechtsreifen weiblichen Ratten konnte nach Prolactingaben eine Stimulierung der Corpus-luteum-Funktion (Pregnan-diolausscheidung) nachgewiesen werden.

Der Einfluß von Prolactin auf die Brustdrüse und deren Milchsekretion kommt erst zustande, wenn der Blutspiegel von Oestrogenen und Progesteron nach Ausstoßung der Pla-

zenta postpartal absinkt. (Hemmung der Milchsekretion durch Follikelhormon) Roß (1938), Giuffrida (1938), Folley (1940), Bates (1941), Voß (1941), Cattaneo (1952). Die Brustdrüse muß aber in der Gravidität durch Oestrogene und Progesteron vorbereitet sein, Fauvet (1941), Hoffmann (1957), sonst kann Prolactin allein keine Milchsekretion hervorrufen, Hoffmann (1937), Voß (1941). Vor der Geburt bleibt Prolactin ohne Wirkung auf die Laktation trotz nachweisbarer Ausscheidung, Segaloff (1951). In den ersten Wochenbetttagen soll die Prolactinausscheidung weiter ansteigen bis ungefähr zum 10. Wochenbetttag, Coppedge (1951), danach soll die Milchsekretion vorwiegend noch durch den Saugreiz aufrechterhalten werden, Fauvet (1941), Caffier (1941), Roemer (1947).

Vorkommen: Prolactin konnte man bis jetzt in verschiedenen Körpergeweben und -organen nachweisen, so z.B. im Colostrum, Guiffida (1938), in der Hypophyse Neugeborener, Fraenkel (1940, im Blut, Simkin (1960), in der Plazenta, Kurosaki (1961), und in der Hypophyse Erwachsener, Currie (1961). In Tierversuchen fand man es im Serum der Stute, Leblond (1937), Hypophyse vom Meerschweinchen und der Ratte, Morato Manaro (1938), besonders bei stillenden Ratten und in der Rinderleber, Rabald (1939). Beim Schaf und Rind konnte, Li (1941), durch Untersuchungen der Löslichkeit des Prolactins in bestimmten Lösungen eine Artspezifität feststellen.

Mit der vorgelegten Arbeit sollte

1. ein Nachweis der Prolactinausscheidung im Wochenbett mit einer für luteotrope Aktivität spezifischen Methode, Blobel (1965), Blobel und Köstlin (in Vorbereitung) erbracht werden.
2. sollte untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem ausgeschiedenen LTH und der Milchsekretion besteht, und
3. sollte ein weiterer Hinweis auf die Identität von Prolactin und LTH erbracht werden.

II. Material und Methodik

a) Prolactinextraktion

Zur Extraktion von Prolactin aus dem Urin wurde die Methode von Coppedge und Segaloff (1951) verwendet. Es wurde von 53 Wöchnerinnen mit überwiegend normalem Geburts- und Wochenbettsverlauf ein 24 h - Urin gesammelt, und zwar vom 2./3., 3./4., 4./5. und 5./6. Wochenbetttag. Der Urin wurde sofort aufgearbeitet

- (1) wurde zu dem 24 h - Sammelurin soviel NaCl gegeben, daß die Lösung 1%ig wurde
- (2) der Urin mußte leicht sauer sein, ggfl. wurde mit Essigsäure angesäuert
- (3) die Urinmenge wurde mit vierfacher 96% Alkoholmenge versetzt
- (4) dann über Nacht stehen gelassen
- (5) zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen
- (6) der Bodensatz 2x mit 96% Alkohol gewaschen
- (7) " " 2x " Äther
- (8) " " getrocknet
- (9) " " zermörsert
- (10) das Pulver wurde 3x je 30 Min. mit je 15 ccm aqua destillata gelöst, die Lösung wurde jeweils gesammelt
- (11) die 45 ccm Lösung wurden in der Kälte dialysiert in einer Cellophanmembran gegen 0,5 % NaCl bei 6 Std.-Wechsel
- (12) das Innendialysat wurde wie die Gesamturinmenge behandelt, s.oben (1) - (9)

Das erhaltene Pulver wurde in 4 bzw. 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, je nachdem wievielen Ratten der Extrakt injiziert wurde. Für je eine Ratte wurden 2 ccm Lösung berechnet. Der gelöste Extrakt wurde auf einen pH-Wert von 6,8 $\pm$ 0,2 eingestellt und den Testtieren subcutan injiziert.

b) Prolactinbestimmung

Es wurde nach der Methode von Blobel (1965), Blobel und Köstlin (in Vorbereitung) gearbeitet. Als Versuchstiere wurden geschlechtsreife, weibliche Albinoratten verwendet. Sie wurden mit einem Durchschnittsgewicht von etwa 150 g übernommen. Sie erhielten als Nahrung Altromin R. Durch Vaginalabstriche, täglich zur gleichen Zeit, wurde der Zyklus der Ratte kontrolliert. Nur Tiere mit einem regelmäßigen Zyklus wurden unmittelbar nach dem Oestrus operiert. Dieser Termin wird gewählt, weil dann ein stimulierbares Corpus luteum präformiert ist. Die Ratten wurden mit einem Durchschnittsgewicht von 184 g in Äthernarkose hypophysektomiert und in gleicher Sitzung adrenaletomiert. Nach der Operation wurden die Tiere für 48 Std. in gewöhnliche Käfige gebracht und mit 5% Glucose- und 1% NaCl - Lösung ernährt. Die nächsten 24 Std. wurden sie einzeln in Stoffwechselkäfige gesetzt und ein 24 h - Urin gesammelt. Die Käfige standen in einem Isolieraum, dessen Temperatur auf konstanten Werten von $23^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ gehalten wurde. Insgesamt 72 Std. nach der Operation wurde den Ratten je 2 ccm des gelösten Prolactinextraktes aus Wöchnerinnenurin subcutan injiziert. Darauf wurde wieder ein 24 h - Urin gesammelt. Der Urin wurde entweder sofort weiterverarbeitet oder eingefroren. Die Ratten wurden abgetötet, und es wurde makroskopisch nachgeprüft, ob die Hypophysektomie vollständig war. Jetzt konnten die gesammelten 24 h - Rattenurine, 1 x vor der Injektion, 1 x nach der Injektion, weiter behandelt werden. Hierzu wurde die Pregnandiolbestimmung mit 0,1% 5 β - Pregnandiol 3 α , 20 α F (Merck-Nr.9282) im Urin modifiziert nach Waldi (1962) verwendet.

- (1) der filtrierte Urin wurde auf einen pH-Wert von 4,6 gebracht und dann mit 0,5 ml β -Glucuronidase / Aryl-Sulfatase (Boehringer GRD/ARS 15427) versetzt

- (2) darauf wurde er 24 Std. im Brutschrank bei 37° C incubiert
- (3) danach wurde die Urinmenge 3 x mit der gleichen Menge Cyclohexan (Merck - Nr.9666) extrahiert, die Cyclohexanportionen wurden gesammelt und vereinigt.
- (4) diese wurden dann noch jeweils 3 x mit NaCl und 3 x mit aqua destillata ausgeschüttelt, bis die Schaumbildung verschwunden war. Zur Beschleunigung dieses Vorgangs konnte die Lösung ein wenig unter fließendem warmen Wasser erwärmt werden.
- (5) die so gereinigte Cyclohexanlösung wurde in Glaskolben verdampft.
- (6) der Niederschlag in 2 ccm Chloroform gelöst und nochmals verdampft.

In dieser Form konnten die Extrakte, wenn sie nicht gleich auf die Kieselgelplatten aufgetragen wurden, im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Es wurden dann Glasplatten vorbereitet, die mit einer 0,2 mm dicken Schicht, einer Mischung aus Kieselgel G nach Stahl (Merck - Nr. 7731) und aqua destillata (im Verhältnis 1 : 2) bedeckt wurden. Sie wurden eine halbe Stunde an der Luft getrocknet und anschließend noch eine halbe Std. im Wärmeschrank bei 120° C. Nach genügend langer Abkühlung wurde der in 0,1 ml Chloroform gelöste Niederschlag (Pregnandiolextrakt) aufgetragen und zwar mit einer geeichten Spritze jeweils 100 Teilstriche = 0,02 ml. Zum Vergleich wurden immer die Extrakte der Urine vom gleichen Tier vor und nach der Injektion auf eine Platte aufgetragen. Zur Eichung wurde eine Pregnandiolstandardlösung (Merck - Nr.9282) in verschiedenen Konzentrationen aufgetragen. Die beschichteten Platten wurden dann für 20 Min. zur Fraktionierung in eine Glaskammer mit einem Aceton - Chloroformgemisch (1:9) gestellt. Danach wurden sie kurz

getrocknet und dann mit 35% Phosphorsäure besprüht, danach nochmals im Wärmeschrank bei 120° C 25 Min. entwickelt. Anschließend wurden bei der Betrachtung unter der UV - Lampe die Punkte im Urin ausgewertet, die auf gleicher Höhe mit den Standard - Pregnandiolwerten lagen. Mit dieser Methode war es möglich, bis zu 0,5 γ Pregnandiol nachzuweisen.

Es wurden vorwiegend jeweils 2 Tiere mit dem Urinextrakt einer Patientin injiziert. Da jedoch einige Extrakte sehr toxisch wirkten, wurden mit der gleichen Menge 3 Tiere injiziert, um die Konzentration zu verringern und damit größere Überlebenschancen für die Tiere zu erhalten. Von den verwertbaren Ergebnissen wurde ein Durchschnittswert für das nachgewiesene Pregnandiol bestimmt. An Hand einer Eichkurve wurden dann dazu die entsprechenden Prolactinwerte, angegeben in mg Prolactin NIH - P - S 5 *, abgelesen. Diese Werte wurden in internationale Einheiten (i.E.) umgerechnet, wobei 1 mg Prolactin NIH - P - S 5 = 17 i.E. entspricht. Nun wurden die errechneten Prolactinmengen auf einen 24 h - Urin umgerechnet. Von allen Werten eines jeden Wochenbettages, bei denen Pregnandiol nachgewiesen werden konnte, wurde der Durchschnitt mit Bestimmung des mittleren Fehlers des Mittelwertes errechnet.

$$\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} = \sum x^2$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}}$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

* Prolactin - Standardpräparat freundlicher Weise zur Verfügung gestellt von der Endocrinology Study Section des US - National Institute of Health.

Dabei wurden die Werte $\leq 0,5 \gamma$ als negativ bezeichnet, wenn in keinem der zur Mittelwertbildung herangezogenen Einzelwerte Pregnandiol nachgewiesen wurde. Bei Werten von $0,5 \gamma +$ konnte bei Ermittlung des Durchschnittes bei mindestens einem Wert Pregnandiol $0,5 \gamma$ nachgewiesen werden. Zur weiteren Berechnung der Gesamtdurchschnittswerte wurden diese Werte mit $0,25 \gamma$ eingesetzt, um dem wahren Mittelwert möglichst nahe zu kommen. Neben dem Durchschnitt der positiven Werte jedes Wochenbettages wurde der Durchschnitt aller auswertbaren Ergebnisse mit Bestimmung des mittleren Fehlers des Mittelwertes errechnet.

III. Ergebnisse

Von 259 Ratten, bei denen der Zyklus bestimmt wurde, konnten 203 Ratten operiert werden. Von diesen starben während und nach der Operation 61 Tiere. 50 Ratten überlebten die Injektion des Prolactinextraktes aus dem Wöchnerinnenurin nicht, da offensichtlich einige Extrakte trotz der Aufarbeitung zu toxisch waren. Die Ergebnisse von 84 Ratten wurden ausgewertet. In vier Tabellen wurden die Ergebnisse eines jeden Wochenbettages gesondert unter Aufführung des Alters der Wöchnerin, des Geburts- und Wochenbettsverlauf, der produzierten Milchmenge, der Pregnandiolwerte und der Prolactinmengen / 24 h - Urin zusammengestellt.

Tabelle 1. Prolactinausscheidung im 24 h - Urin bei
10 Wöchnerinnen am 2./3. Wochenbetttag

Fall Name Alter Gebur- tenzahl Verlauf				Geburts- Wochen- Verlauf	Still- fähig- keits- Verlauf	Milchmen- ge am 2. Wochen- betttag	Urimen- ge v. 2. Wochen- betttag	Pregnan- diol in 24 h-Urin* vor Extrakt- Injekt.	Durch- schnitt	entsprechende Prolac- tin-Werte in 24 h-Urin NIH - P - S 5 mg	i. E.
							ccm				
1. L.S.	28 J.	II	para spontan	foetide stillt Lochien voll	-	-	600	1 γ 2-3 γ	1 γ 1 γ	< 0,5 γ	-
2. L.H.	37 J.	V	"	subin- vol.ut. voll	-	-	500	3 γ A < 0,5 γ	1 γ 3 γ	2,75 γ	0,540
3. E.B.	26 J.	III	"	o.B. stillt fast voll	-	-	700	2 γ 3 γ	1-2 γ 2 γ	< 0,5 γ	-
4. E.H.	19 J.	I	"	o.B. stillt fast voll	-	-	1000	1 γ 2 γ	< 0,5 γ 1 γ	< 0,5 γ	-
5. E.S.	28 J.	II	"	subinvol.stillt Anämie fast voll	10	-	400	2 γ 2-3 γ	3 γ 2 γ	0,5 γ	0,130
6. S.H.	28 J.	I	"	o.B. stillt fast voll	30	-	1200	0,5 γ	2,5 γ	2 γ	0,165
7. M.M.	33 J.	IV	"	o.B. stillt fast voll		-	900	2 γ 2 γ 2 γ	3 γ 1-2 γ 1 γ	0,5 γ	0,195
8. D.K.	40 J.	III	para	o.B. initiale Hypogalaktie		-	500	< 0,5 γ 2 γ	3 γ 1 γ	1,5 γ	0,240
9. D.H.	30 J.	II	"	o.B. prim. Hypogalaktie		-	800	< 0,5 γ	2 γ	1,75 γ	0,280
10. H.S.	28 J.	III	para	o.B. stillt fast voll	10	-	600	< 0,5 γ 1-2 γ	2 γ 2 γ 2 γ	1,33 γ	0,330

* von hypophysektomierten, adrenaletomierten, geschlechtsreifen weiblichen Ratten vor und nach der Injektion des Wöchnerinnenurinextraktes, d.h. 48 - 72 Std. und 72 - 96 Std. p.op.

Tabelle 2: Prolactinausscheidung im 24 h - Urin bei 9 Wöchnerinnen am 3./4. Wochenbett

Gemessen an Lutetiopter Aktivität

Fall	Name	Alter	Geburts- tenzahl	Geburts- verlauf	Wochen- betts- verlauf	Still- fähig- keit	Milchmen- ge am 3. Wochen- betttag	ccm	Urinmen- ge v. 3. Wochen- betttag	ccm	Probandiöl in 24 h-Urin vor Extrakt- Injekt.	nach Extrakt- Injekt.	Durch- schnitt	entsprechende Prolac- tin-Werte in 24 h-Urin Mitt. - P - S 5 I.E. mg	
1.	I.B.	19 J.	II	para	o.B.	stillt voll	190		700		2 γ 2 γ	1-2 γ 2 γ	<0,5 γ	-	-
2.	R.K.	35 J.	I	"	"	o.B.	stillt fast voll	20	900		<0,5 γ <0,5 γ	<2 γ <0,5 γ	1 γ	0,176	2,992
3.	T.W.	25 J.	II	"	"	Hyper- tonie	stillt voll	30	300		<0,5 γ 3 γ	2-3 γ 2 γ	1,125 γ	0,188	3,196
4.	E.M.	25 J.	II	"	"	o.B.	stillt voll	120	1000		3 γ 2 γ 2 γ	2 γ 1 γ 1-2 γ	<0,5 γ	-	-
5.	E.H.	27 J.	II	"	"	o.B.	stillt voll	10	900		3 γ 3 γ 2 γ	<0,5 γ 1-2 γ 2 γ	<0,5 γ	-	-
6.	I.J.	24 J.	IV	"	"	o.B.	stillt voll	180	500		<0,5 γ 3 γ 1-2 γ	1-2 γ 1,5 γ <0,5 γ	<0,5 γ	-	-
7.	M.H.	33 J.	III	"	"	Lochien-stillt verhaltg.voll	20		900		<0,5 γ 1 γ	<0,5 γ 2-3 γ	0,875 γ	0,162	2,754
8.	A.W.	32 J.	IV	"	"	subinvol.,stillt fast voll	80		1000		<0,5 γ	3 γ	2,75 γ	0,540	9,180
9)	E.J.	30 J.	I	"	"	o.B.	stillt voll	320	600		2 γ <0,5 γ 2 γ	<0,5 γ 3 γ 2 γ	1 γ	0,264	4,488

* von hypophysektomierten, adrenalectomierten, Geschlechts-
reifen weiblichen Ratten vor und nach der 14. Ex-
stirpation

Aus Tabelle 1 (s.Seite 9) ist ersichtlich, daß vom 2./3. Wochenbetttag der Urinextrakt von 14 Wöchnerinnen untersucht wurde. 1 Patientinnenurin konnte nicht ausgewertet werden, da die Ratten nach der Injektion des Extraktes starben. Die Ergebnisse von 3 weiteren Patientinnenurinen konnten wegen fraglich vollständiger Hypophysektomie der Tiere nicht verwertet werden. 10 Patientinnenurine wurden ausgewertet, wobei man 3 negative Werte, d.h. Werte von $< 0,5 \gamma$ erhielt (Tab. 1, Fall 1, 3 und 4) Bei 7 Patientinnen konnte eine LTH - Ausscheidung nachgewiesen werden, und zwar mit Werten

von 2,21 i.E. Prolactin / 24 h - Urin

bis 9,18 i.E. Prolactin / 24 h - Urin.

Für diese 7 positiven Werte ergab sich ein Durchschnitt von $4,566 \pm 0,885$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin. Errechnete man den Mittelwert aller 10 auswertbaren Urinextrakte, indem man die negativen Werte gleich Null setzte, erhielt man einen Mittelwert von

$3,196 \pm 0,923$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin.

In Tabelle 2 (s.Seite 10) sind die Ergebnisse von 12 Patientinnen, die am 3./4. Wochenbetttag untersucht wurden, zusammengestellt. Die Ergebnisse von 3 Patientinnen entfielen, da die Ratten nach Injektion des Urinextraktes starben. Bei den 9 auswertbaren Urinextrakten konnte man in 5 Fällen LTH nachweisen mit Werten zwischen 2,754 i.E. Prolactin / 24 h - Urin und 9,180 i.E. Prolactin / 24 h - Urin.

Bei diesen 5 positiven Fällen ergab sich ein Durchschnitt von $4,522 \pm 1,203$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin. Ein Gesamtdurchschnitt aller 9 auswertbaren Patientinnen ergab sich mit

$2,512 \pm 1,017$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin.

Aus Tabelle 3 (s.Seite 13) ergibt sich: Am 4./5. Wochenbetttag wurde der Urin von 10 Patientinnen untersucht. Die Ergebnisse einer Patientin entfielen wegen Tod der Ratten nach Injektion des Extraktes. Von 3 weiteren Patientinnen konnten wegen fraglich vollständiger Hypophysektomie die Ergebnisse nicht verwertet werden. Bei den 6 auswertbaren Untersuchungen konnte bei jedem Fall LTH nachgewiesen werden, und zwar mit Werten
 von 2,992 i.E. Prolactin / 24 h - Urin
 bis 16,320 i.E. Prolactin / 24 h - Urin *

Hierbei ergab sich ein Durchschnitt von

$3,563 \pm 0,365$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin.

Tabelle 4 (s.Seite 14) entspricht dem 5./6. Wochenbetttag, an dem 17 Patientinnen untersucht wurden. 6 mit Wöchnerinnen-Urinen injizierte Ratten starben nach der Injektion. Die Ergebnisse von 3 Patientinnen konnten wegen fraglich vollständiger Hypophysektomie der Tiere nicht verwertet werden. Von den verbleibenden 8 Patientinnen konnte bei 5 Patientinnen LTH nachgewiesen werden mit Werten

von 2,805 i.E. Prolactin / 24 h - Urin

bis 20,400 i.E. Prolactin / 24 h - Urin *

Für diese 5 ergab sich ein Durchschnitt von

$6,184 \pm 1,142$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin

Der Durchschnitt aller auswertbaren Ergebnisse betrug

$3,512 \pm 1,385$ i.E. Prolactin / 24 h - Urin

In zwei Abbildungen (s.Seite 15 u. 16) sind die Prolactinwerte / 24 h - Urin in Beziehung gesetzt zu den Milchmengen der entsprechenden Wochenbettage.

* Nach dem Chauvenet's Kriterium fällt dieser Wert bei der Berechnung des Durchschnitts heraus.

Tabelle 3i Prolactinausscheidung im 24 h - Urin bei
6 Wöchnerinnen am 4./5. Wochenbetttag

Gemessen an luteotroper Aktivität

Fall	Name	Alter	Gebur- tenzahl	Geburts- verlauf	Wochen- Verlauf	Still- fähig- keit	Milchmen- ge am 4. Wochen- betttag	Urinmen- ge v. 4. Wochen- betttag	Pregnan- diol in 24 h-Urin vor nach Extrakt- Extrakt- Injekt. Injekt.	Durch- schnitt	entsprechende Prolac- tin-Werte in 24 h-Urin NIH - P - S 5 i.E. mg		
					ccm	ccm	ccm	ccm					
1.	S.S.	25 J.	I	para	spontan	Anaemie, stillt subinvol. voll ut., foe- tide Lochien	150	1000	<0,5 γ <0,5 γ	2 γ <0,5 γ	1 γ	0,176	2,992
2.	H.K.	25 J.	II	"	"	subinvol. sek. ut. Hypoga- laktie	120	1000	<0,5 γ <0,5 γ	<0,5 γ 2 γ	1 γ	0,176	2,992
3.	H.L.	25 J.	I	"	Vakuum- Extrakt	o.B. stillt nicht voll	-	700	<0,5 γ <0,5 γ	3 γ 1 γ	1,75 γ	0,280	4,760
4.	E.B.	27 J.	I	"	spontan	Spät- stillt toxikose	270	1200	<0,5 γ <0,5 γ	<0,5 γ 3 γ	1,5 γ	0,240	4,080
5.	E.S.	30 J.	I	"	"	subinvol. stillt ut. voll	240	600	<0,5 γ	5 γ	4,75 γ	0,960	16,320*
6.	G.L.	32 J.	III	"	"	o.B. stillt voll	340	1200	1 γ	2 γ	1 γ	0,176	2,992

* von Hypophysektomierten, adrenalectomierten, geschlechts-
reifen weiblichen Ratten vor und nach der Injektion des
Wöchnerinnenurinextraktes, d.h. 48 - 72 Std. und 72 - 96
Std. p.op.

* Nach dem Chauvenet's Kriterium fällt dieser Wert bei der
Berechnung des Durchschnitts heraus.

Tabella 4: Prolactinausscheidung im 24 h - Urin bei 8 Wöchnerinnen am 5./6. Wochenbett

Gemessen an luteotroper Aktivität

Fall Name	Alter	Geburts- Verlauf	Geburts- Wochen- bett- Still- fähi- ge am 5. Wochen- betttag	Milchmen- ge am 5. Wochen- betttag	Urinmen- ge v. 5. Wochen- betttag	Pregnan- diol in 24 h-Urin vor Extrakt- Injekt.	nach Extrakt- Injekt.	Durch- schnitt	entsprechende Prolac- tin-Werte in 24 h-Urin mU - p - g - i - B.			
1. M.H.	29 J.	II para	spontan	o.B.	stillt voll	250	400	<0,5 γ	<0,5 γ	<0,5 γ	-	-
2. F.D.	23 J.	II	"	Anaemie stillt sublinv. ut voll	480	1100	2-3 γ	2 γ	<0,5 γ	-	-	
3. V.H.	26 J.	I	"	fieberh. stillt Infekt voll	330	500	1 γ 2 γ 1-2 γ	<0,5 γ 1 γ 2-3 γ	<0,5 γ	+	0,165	2,805
4. E.S.	33 J.	I	"	o.B.	stillt voll	160	800	2 γ 1 γ 4-5 γ <0,5 γ	3 γ 4-5 γ <0,5 γ	1,25 γ	0,400	6,800
5. G.S.	27 J.	IV	"	sublinv. stillt ut voll	200	1000	<0,5 γ	<0,5 γ	<0,5 γ	-	-	
6. I.D.	26 J.	I	"	o.B.	stillt voll	230	600	2 γ	4-5 γ	2,5 γ	0,440	7,480
7. M.L.	33 J.	III para	"	o.B.	sek. Hypo- galaktie	900	500	1 γ 1 γ 1 γ 1-2 γ	3 γ 3-4 γ 2 γ 4-5 γ	1,83 γ	0,450	7,650
8. G.J.	26 J.	I	"	o.B.	stillt voll	290	500	<0,5 γ 1-2 γ	4 γ 4-5 γ	3,38 γ	1,200	20,400 *

* von hypophysektomierten, adrenalectomierten, Geschlechts-
reifen weiblichen Ratten vor und nach der Injektion des
Wöchnerinnenurineextraktes, d.h. 48 - 72 Std. und 72 - 96
Std. p.op.

* Nach dem Chauvenet's Kriterium fällt dieser Wert bei der
Berechnung des Durchschnitts heraus.

In Abbildung 1 wurden auf der Abszisse die Wochenbettage aufgetragen und auf der Ordinate einmal das Prolactin in i.E. / 24 h-Urin, hier nur die Durchschnittswerte aller positiven Ergebnisse, und zum anderen die Milchmenge. Daraus ist ersichtlich, daß die produzierte Milchmenge ansteigt, die Prolactinausscheidung dagegen zunächst abfällt und erst am 5./6. Wochenbetttag ansteigt.

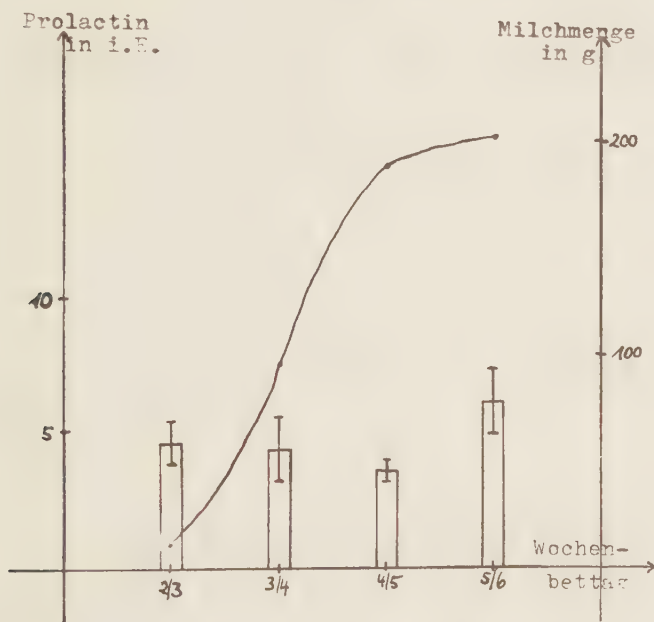


Abb. 1 : Prolactinausscheidung in Beziehung gesetzt zum Wochenbettage und zur Milchsekretion (Verwendung nur der positiven Werte) Die Höhe der Prolactinausscheidung ist in Säulen dargestellt, wobei die senkrechten Striche für den mittleren Fehler des Mittelwertes stehen. Die Kurve entspricht der Milchsekretion der einzelnen Wochenbettage.

In Abbildung 2 sind im Unterschied zu Abbildung 1 nicht nur die positiven Werte sondern die Durchschnittswerte aller auswertbaren Ergebnisse eines jeden Wochenbettages aufgetragen. Es ergibt sich hierbei, daß die Prolactinausscheidung nach dem 4./5. Wochenbetttag nicht weiter ansteigt, während die Milchmenge ihre ansteigende Tendenz behält.

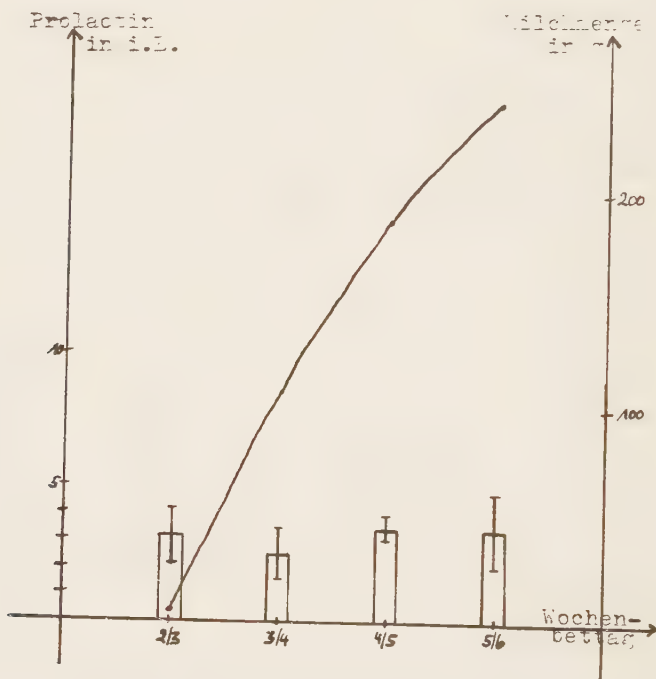


Abb. 2 : Beziehung zwischen Prolactinausscheidung, Wochenbetttag und Milchsekretion mit Verwertung des Gesamtdurchschnittes. Die Höhe der Prolactinausscheidung ist in Säulen dargestellt, wobei die senkrechten Striche für den mittleren Fehler des Mittelwertes stehen. Die Kurve entspricht der Milchsekretion der einzelnen Wochenbettage.

IV. Diskussion

Mit der angewendeten Methode gelang es, luteotrope Aktivität in den ersten Wochenbetttagen nachzuweisen, und zwar ergaben sich vom 2./3. - 5./6. Wochenbetttag Werte, die zwischen 2,21 i.E. Prolactin / 24 h - Urin und 20,40 i.E. Prolactin / 24 h - Urin lagen. Wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, konnte man vom 3./4. Wochenbetttag zum 4./5. Wochenbetttag einen raschen Anstieg der Werte feststellen, während am 5./6. Wochenbetttag die Prolactinmengen wieder etwas abfielen. Diese Abnahme der Prolactin-Ausscheidung post partum konnte auch von anderen Autoren beobachtet werden Coppedge und Segaloff (1951) . Wenn man ihre Werte mit denen dieser Arbeit vergleicht, stellt man fest, daß sie erheblich höhere Ergebnisse durch den Nachweis mit dem Riddleschen Taubentest erhalten haben. Sie untersuchten einige Frauen während der Schwangerschaft und post partum und erhielten Werte, die zwischen 50 - 200 i.E./ 24 h - Urin lagen.

Hadfield (1957) fand bei Frauen im Wochenbett 0,01 - 0,25 i.E./ ml Harn. Rechnet man diese Werte auf einen 24 h - Urin um (bei einer durchschnittlichen Urinmenge von 700 ccm) erhält man 7,0 - 17,5 i.E. Prolactin / 24 h - Urin. Diese Angaben decken sich fast mit den Werten, die bei der vorliegenden Arbeit gefunden wurden.

Die Ergebnisse anderer Autoren dagegen lassen einen Vergleich nicht ohne weiteres zu, da die Werte nicht in i.E. angegeben sind. So fand Leßmann (1939) bei Frauen im Wochenbett 100 - 200 Taubenkropfeinheiten (T.E.)/ l Urin; er führte den Nachweis mit dem Riddleschen Taubentest, der Urin wurde nach einer Methode von Lyons und Page aufgearbeitet.

Langecker und Schenk (1936) fanden in 1,5 l Wöchnerinnenurin eine Prolactinwirkung, die 1,8 g frischer Rinderhypophyse entspricht.

Dagegen hatten Bahn und Bates (1956) bei Untersuchungen der Prolactinausscheidung im Urin mit der histologischen Methode der Kropfdrüse der Taube nur negative Ergebnisse. Sie konnten selbst bei Frauen in der späten Schwangerschaft und während der Laktation keine Prolactinausscheidung feststellen.

Bei den vorliegenden Ergebnissen konnte keine Beziehung zwischen Hypolaktie und Prolactinausscheidung gefunden werden. (s. Tabelle 1 , Fall 8 und 9

" 3 , " 2
" 4 , " 7)

Jedoch vermutete Hoffmann (1937) eine Korrelation zwischen der Ausscheidung von Prolactin und Hypogalaktie: Er fand bei ausreichender Milchsekretion mehr Prolactin als bei ungenügender Milchmenge. Ausgehend von diesen Ergebnissen versuchte man, durch Prolactingaben bei Wöchnerinnen eine Steigerung der Milchproduktion zu erzielen.

Kaijser (1940), der Prolactin in der ersten Woche nach der Geburt Wöchnerinnen injizierte, beobachtete auch eine gesteigerte Milchsekretion, ebenso Mavromati (1939), Meave u. King (1939), Preissecker (1941) und Voß (1941). Stewart u. Pratt (1939) dagegen sahen keinen positiven Effekt auf die Laktation nach Gaben von 1000 T.E. Prolactin am 6.-9. Wochenbetttag. Auch H. Roemer (1947) fand nur in 13 % seiner Fälle eine gesteigerte Milchproduktion nach Prolactingaben.

Aus Abb. 1 und Abb. 2 läßt sich eine Korrelation zwischen Prolactinausscheidung und Milchproduktion an den einzelnen Wochenbetttagen ablesen. Für den Einzelfall

ist eine direkte Beziehung zwischen Prolactinausscheidung und Milchproduktion nicht festzustellen, jedoch für den Gesamtdurchschnitt der Fälle. Daher kann man vermuten, daß Prolactin nur ein Teilfaktor der Laktation ist, wie auch Roemer (1947) u.a. feststellten. Vielleicht könnte man außerdem annehmen, daß ein Zusammenhang zwischen Prolactinausscheidung und Milcheinschuß besteht, da der rasche Anstieg der Prolactinmengen mit dem Milcheinschuß am 3./4. Wochenbetttag zusammenfällt. Im Tierversuch konnten schon Stricker und Grueter (1929) einen Milcheinschuß durch Prolactingaben provozieren bei geschlechtsreifen weiblichen Kaninchen, jedoch nicht bei juvenilen Tieren.

Die eingangs gestellten Fragen kann man nun folgendermaßen beantworten.

- 1.) Es gelang, mit einer für luteotrope Aktivität spezifischen Methode Prolactinausscheidung in den ersten Wochenbetttagen nachzuweisen, und man konnte damit die Ergebnisse anderer Autoren mit anderen Methoden (Lyons u. Page, Meites u. Turner u.a.) bestätigen.
- 2.) Der Beweis für einen direkten Zusammenhang zwischen der Prolactinausscheidung und der produzierten Milchmenge konnte zwar nicht für den Einzelfall wohl aber für den Durchschnitt erbracht werden.
- 3.) Die Übereinstimmung der gefundenen Werte luteotroper Aktivität mit den Prolactinmengen anderer Autoren (Hadfield, Leßmann, Coppedge und Segaloff, u.a.) ist ein weiterer Hinweis für die vermutete Identität von Prolactin und luteotropem Hormon.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde mit einer für luteotrope Aktivität spezifischen Methode die Ausscheidung an luteotroper Aktivität in den ersten Tagen des Wochenbettes untersucht. Es konnte LTH vom 2./3. Wochenbetttag bis zum 5./6. Wochenbetttag mit Werten von

2,21 i.E. - 20,40 i.E. Prolactin / 24 h - Urin

nachgewiesen werden. Die Ergebnisse wurden mit denen der Literatur verglichen. Eine sichere Beziehung zwischen Prolactinausscheidung und Milchsekretion wurde für den Einzelfall nicht gefunden, im Durchschnitt ergibt sich eine Korrelation zwischen LTH und Milchsekretion. Durch die positiven Ergebnisse konnte ein weiterer Beweis für die Identität von Prolactin und LTH bei der Ratte erbracht werden.

Literaturverzeichnis

1. Astwood, E.B.: Tests for Luteotrophin, Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology, vol. 5.p.74 London: Churchill (1953)
2. Bahn, R.C. und Bates, R.W.: Histologic criteria for detection of prolactin: lack of prolactin in blood and urine of human subjects, J.clin. Endocrin. a. Metabolism 16, 1337 - 1346 (1956)
3. v.Berswordt-Wallrabe, I. und Herlyn, U., Jantzen, K.: A modification of the pigeon crop sac assay for determination of lactogenic hormone (prolactin) in human serum. 5 th Acta Endocrinologica Congress, Hamburg 1965
4. Blobel, R.: An assay of prolactin based on the excretion of pregnanediol in hypophysectomized, adrenalectomized rats, 5 th Acta Endocrinologica Congress Abstract No 134, Acta endocr. (Kbh.) Suppl.100 (1965) 166
5. Caffier, P. und Sirry-Özkayaalp, E.: Tierversuche zur Laktationshemmung mit Stilbenpräparaten (Zugleich ein Beitrag zur Frage des Saugreizes) Zbl.Gyn. 1941, S. 50
6. Cattaneo, P. e Russo, M.: L'azione biologica della prolattina, Clin.obstetr. e ginecol 54, 129 - 137 (1952)
7. Coppedge, R.L. and Segaloff, A.: Urinary prolactin excretion in man, J.Clin.Endocrin. 11, 1951, 465 - 476
8. Cuboni, E. e Carminati, G.M.: Dimostrazione dell'attività della prolattina mediante l'iniezione nel coniglio, Boll. Soc. ital.

Biol. sper. 29, 446 - 448 (1953)

9. Currie, A.R. a. Dekanski, J.B.: Gonadotrophins and prolactin in human pituitary glands
Acta endocrin. (Kbh) 36, 185-196 (1961)
10. Ehrhardt, K.: Hypophysenvorderlappen und Genitale
(Klin. ther. Untersuchungen), Münch.
med. Wschr. 1928, 19, S.812
Über das Laktationshormon des Hypo-
physenvorderlappens, Münch. med.
Wschr. 1936 II, 1163 - 1164
11. Ehrhardt, K. u. Voller, H.F.: Untersuchungen über
das Lactationshormon des Hypophysen-
vorderlappens, Endocrin. 22, 19 - 24
(1939)
12. Folley, S.J. a. Young, F.G.: Prolactin as a speci-
fic lactogenic hormone, Lancet 1941 I
380 - 381
13. Fauvet, E.: Lactation und Hormone, Ther. Gegenw. 82,
440 - 444 (1941)
Zur Frage der hormonalen Hemmung der
Lactation, Zbl. Gyn. 1941, S. 1566
Über die Wirkung des Follikelhormons
auf die funktionierende Milchdrüse,
1943, S. 106
14. Fraenkel, L.J., Manaro, M., Albrieux, A.: Das Pro-
lactin in der Hypophyse des Neugebo-
renen, Ar.Clin. e Just. Endocr. 1,
543 - 547 u.dtsch. Zusammenfassung
547 (1940) Span.
15. Grueter, F. et Stricker, P.: Recherches expérimen-
tales sur des fonctions du lobe an-
térieur sur l'appareil de la Caprine
et sur la montée laiteuse, Presse
méd., 1929 II, 1268 - 1271

16. Guiffrida, F.: Contributo allo studio del prolactin,
Fol. demogr. gynaec. (Genova) 35,
161 - 176 (1938)
17. Hadfield, G. a. Young: The mammatrophic potency of
human urine, Brit. J. Cancer 10 (1956)
145 - 168
18. Hadfield, G.: The nature and origin of the mamma-
trophic agent present in humen female
urine, Lancet, London, 1957 I, 1058 -
1061, Brit. med. J. 1, 94 (1956) zi-
tiert aus: H.E.Voss, Das luteotrope
Hormon, S. 578 - 599 in Fermente, Hor-
mone, Vitamine.
19. Hoffmann, Fr.: Über die hypophysäre Hypogalaktie,
Zbl. Gynäk. 1937, 35 - 38
20. Kaijser, K.: The effect of prolactin on the sekre-
tion of milk in women in the puerpe-
rium und for the first few months
after parturition as well as in new-
born babies. Acta med. scand. (Stock-
holm) 104, 158 - 215 (1940)
21. Kurosaki, M.: Prolactin - like substance of human
placenta, Tokohn J. exp. Med. 75,
122 - 136 (1961)
22. Langecker, H. u. Schenk, F.: Über die Ausscheidung
des die Milchsekretion fördernden
Hypophysenvorderlappenanteils im
Frauenharn, Med. Klin. 1936 II,
1104, 1105
23. Leblond, C.P. et Allen, E.: Méthode rapide de re-
cherche de la prolactine (hormone
lactogène de l'hypophyse), C.r.Soc.
Biol. Paris 124, 1190 - 1191 (1937)
Endocrinology 21 (1937) 455, zitiert

aus: H.E.Voss, Das luteotrope Hormon, S. 578 - 599 in Fermente, Hormone, Vitamine.

24. Leblond, C.P.: Presence detraces de prolactine dans le sérum de la jument durant la gravidité et la lactation, C.r. Soc. Biol. Paris 124, 1062 - 1063 (1937)
25. Leßmann, F.: Vorkommen und Eigenschaften des Laktationshormons der Hypophyse, Zschr. Geburtshilfe, Stuttgart 119, (1939) 271
26. Li, Ch.H., Lyons, W.R. u. Evans, H.M.: Studies on pituitary lactogenic hormone. 3. Solubilities of sheep and beef hormones, J. gen. Physiol. 24, 303 - 309 (1941)
27. Lyons, W.R. and Page, E.: Detection of mammatropin in urine of lactating women, Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 32, 1049 (Apr.) 1935
28. Mavromati, L.: Zunahme der Milchsekretion durch ein hypophysäres galactogenes Hormon: Prolactin. Rev. Obstetr. 19, 197 - 206 (1939) Rum., Ber. Gynäk. 39, 148
29. Meave, K., Earl King, Evers, N., Hurran, W.J.: Effect of prolactin on lactation in nursing women, Lancet 1939 II, 828 - 831
30. Meites, J. u. Turner, C.W.: Extraction and assay of lactogenic hormone in postpartum wine J.Clin. Endocrinol. 1, 918 - 923 (Nov.) 1941
31. Mc Shan u. Turner, C.W.: (1936) Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 34, 50 zitiert nach J.A. Lorain in the clinical application of hormon assay

32. Morató Manaro, J. u. Albrieux, A.: Nachweis von Prolactin in der Hypophyse von Tieren, Rev. Biol. e Hyg. 9, 87 - 89 (1938) Span.
33. Preissecker, E.: Zur praktischen Anwendung des Laktationshormons des Hypophysenvorderlappens, Wien, klin. Wschr. 1941 I, 53 - 57
34. Rabald, E. u. Voß, H.E.: Über Vorkommen und Eigenschaften des Lactationshormons, Hoppe-Seylers Z. 261, 71 - 81 (1939)
35. Roemer, H.: Über Frühaktation und deren Beeinflussbarkeit durch das Laktationshormon, Ärztl. Forschung, 1. Jahrgang 1947, S. 122 - 137
36. Riddle, O., Bates, R.W. u. Dykshorn, S.W.: The preparation, identification und assay of prolactin - a hormone of the anterior pituitary, Amer. J. Physiol. 105, 191 - 206 (1933)
37. Ross, J.R.: Prolactin: Its effect on the secretion of woman's milk, Endocrin. 22, 429 - 434 (1938)
38. Simkin, B. and Goodart, D.: Preliminary observations on prolactin activity in human blood J. clin. Endocrin. 25, 1095 - 1106 (1960)
39. Stewart jr, H.L. and Pratt, J.P.: Effect of prolactin on mamary gland secretion, Endocrin. 25, 347 - 353 (1939)
40. Voß, H.E.: Prolactin und Progesteron, Zbl. Gyn. (1941), S. 79 - 83
Über den Synergismus von Prolactin

und Progesteron (Nachtrag zur vorh.
Arbeit) Zbl. Gyn. (1942), S.514 - 516

41. Waldi, D.: Einfache quantative Schnellbestimmung von
Pregnandiol auf Dünnschichtplatten
zur Frühschwangerschaft und zur Über-
wachung des Zyklus der Frau, Kli.
Wschr. 40, 827 - 830, (1962)
42. Wolthuis, O.L.: An assay of prolactin based on a
direct effect of this hormone on
cells of the corpus luteum, Acta en-
docrin. (Kbh.) 42, 364 - 379 (1963)

Herrn Professor Dr. H. Roemer

danke ich für die guten Arbeitsmöglichkeiten und für
die Erlaubnis, die Untersuchungen an der Universitäts-
Frauenklinik durchführen zu dürfen.

Für die Überlassung des Themas und freundliche Unter-
stützung zum Fortgang der Arbeit sage ich

Herrn Dozenten Dr. R. Blobel

aufrichtigen Dank.

Lebenslauf

Am 22. Juni 1941 wurde ich als Tochter des Ing.agr. Friedrich Wilhelm Bube und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Behre, in Hannover geboren. Ich besuchte die Volksschule in Braunschweig und Sulingen, sowie das Gymnasium in Diepholz, wo ich im Februar 1961 die Reifeprüfung ablegte. Nach Ableistung des Krankenpflege-Praktikums am Sulinger Kreiskrankenhaus begann ich mein Medizin-Studium an der Wilhelms-Universität in Münster. Im Frühjahr 1962 bestand ich dort das Vorphysikum und im Frühjahr 1964 das Physikum. Nach dem Sommersemester 1964 setzte ich mein Studium im Wintersemester 1964/65 an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen fort. Im Sommersemester 1965 begann ich mit den Experimenten für die vorliegende Arbeit im Endokrinolog. Labor der Universitäts-Frauenklinik Tübingen. Das Staatsexamen bestand ich im Juli 1967 an derselben Universität.

Renate Hammond

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen